DOI:10.11931/guihaia.gxzw201901020

HPLC 法测定不同产地和品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量

涂勋良[1]，张利[3]，秦帆[1]，万斌[1]，吕秀兰[2*]

（1. 四川省农业科学院园艺研究所，成都 610066；2. 四川农业大学园艺学院，成都 611130；3. 四川农业大学理学院，四川 雅安 625014）

摘要：该研究建立了同时测定檬苦素和诺米林含量的高效液相色谱法，并采用该方法对 8 不同柠檬样品中柠檬苦素和诺米林含量进行了测定。色谱条件为安捷伦 Eclipse XDB–C18（250 mm × 4.6 mm, 5 μm）色谱柱，流动相为 0.1%磷酸水溶液（A）–乙腈（B），梯度洗脱，流速为 1.0 mL min^{-1}，柱温为 30 ℃，波长为 210 nm。结果表明：3 个产地尤力克果皮中柠檬苦素含量依次为云南瑞丽（EUR_D）、四川安岳（EUR_C）和广东河源（EUR_Y），诺米林含量依次为 EUR_D、EUR_C 和 EUR_Y；不同品种柠檬果皮中柠檬苦素含量依次为北京柠檬（M_NM）、粗柠檬（R_NM）、无核柠檬（S_NM）、热那亚（RNY）、里斯本（LSB），诺米林含量依次为 S_NM、R_NM、LSB、RNY 和 M_NM。研究结果表明不同产地和品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量均存在不同程度差异，该 HPLC 法可为不同产地和不同品种柠檬果实质量鉴别、资源评价及深度开发提供理论依据。

关键词：柠檬，柠檬苦素，诺米林，高效液相色谱法

中图分类号：TS255.1；S666.5　　**文献标志码：**A

Determination of limomin and nomilin of different varieties of lemon peel from different areas by HPLC

TU Xunliang[1], ZHANG Li[3], Qin Fan[1], Wan Bin[1], LÜ Xiulan[2]*

(1. *Horticulture Research Institute*, *Sichuan Academy of Agricultural Sciences*, Chengdu 610066, China; 2. *College of Horticulture*, *Sichuan Agricultural University*, Chengdu 611130, China; 3. *College of Sciences*, *Sichuan Agricultural University*, Ya'an 625014, Sichuan, China)

Abstract: This study established an HPLC method for simultaneous determination of limonin and nomilin in *Citrus limon*, and the content of limonin and nomilin in 8 different lemon samples was determined by this method. The chromatographic condition was performed on an Agilent Eclipse XDB–C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase consisted of 0.1% aqueous phosphoric acid (A) and acetonitrile (B) was invoked as gradient elution with the flow rate at 1.0 mL min^{-1}. The column temperature was set at 30 °C and the detection wavelength was set at 210 nm. The results showed that the content of limonin in the lemon peel of three producing areas was Ruili,Yunnan (EUR_D), Anyue,Sichuan (EUR_C) and Heyuan,Guangdong (EUR_Y) respectively, while the content of nomilin was EUR_D, EUR_C and EUR_Y. The content of limonin in different varieties of lemon peel was Beijing lemon (M_NM), Rough lemon (R_NM), Seedless lemon (S_NM), Genoa (RNY) and Lisbon (LSB), while the content of nomilin was S_NM, R_NM, LSB, RNY and M_NM. The results displayed that the content of limonin and nomilin in lemon peel from different areas and varieties was different. The HPLC method can provide a theoretical basis for the quality identification, resource evaluation and in-depth development of lemon fruits from different areas and varieties.

Key words: *Citrus limon*, Limomin, Nomilin, High-Performance Liquid Chromatography

柠檬苦素类似物（limonoids）是存在于芸香科（Rutaceae）和楝科（Meliaceae）植物中的一类具有呋喃环并且高度氧化的三萜类次生代谢产物（Maier et al., 1977）。在柑橘属中主要有苷元和糖苷两大类（潘利华等, 2007），它们是引起柑橘属果汁泛苦的主要原因之一。迄今已从柑橘属中分离出 38 种类似物和 21 种配糖体（Manners, 2007），常见的有柠檬苦素（limomin）、诺米林（nomilin）、奥巴叩酮（obacunone）、诺米林酸（nomilinic acid）和脱乙酰诺米林（deacetylnomilin）等。诺米林在植物茎韧皮部合成并转移至其他组织（Moriguchi et al., 2003），在酶的作用下，通过不同生物合成途径合成柠檬苦素、醋酸柠檬苦酯、宜昌根辛

基金项目：国家现代农业产业技术体系四川创新团队专项资金项目；四川省科技支撑计划项目(2013FZ0036)[Supported by Grants from Special Fund of the National Modern Agricultural Industry Technology System of Sichuan Innovation Team; Key Technology Research and Development Program of the Science & Technology Department of Sichuan Province (2013FZ0036)]。

作者简介：涂勋良(1987–)，男，重庆綦江人，博士，助理研究员，研究方向为观赏植物繁育与栽培，（E-mail）txl0103@163.com。

***通信作者：**吕秀兰，博士，教授，研究方向为果树学，（E-mail）xllvjj@163.com。

和卡拉敏等类似物（蔡护华和桥永文男, 1996）。柠檬苦素类似物具有抗癌（Tanaka et al., 2000；Miller et al., 2004）、抗氧化（Sun et al., 2005；Zou et al., 2016）、抑菌（罗水忠等, 2006；李彪等, 2012）、抗炎镇痛（温靖等, 2007）、除虫杀虫（李彪等, 2012）、抑制 HIV 病毒复制（Battinelli et al., 2003；Yu et al., 2015）、降低胆固醇等多种生物活性。

目前，柠檬苦素类似物主要测定方法有分光光度法（田庆国等, 1999）、放射免疫测定法（Mcintosh, 2000）、薄层色谱法（Ohta et al., 1993）、毛细管胶束电色谱方法（Raynor et al., 2015）和快速色谱法（Flash chromatography）（Raman et al., 2005）、高效液相色谱法（Bilal et al., 2013；Breksa et al., 2015；Manners et al., 2015）、LC/MS（Manners et al., 2004；Woo et al., 2006）、LC-ToF/MS（Yu et al., 1993）。Bilal et al.（2013）采用 HPLC 法测得血橙中柠檬苦素为 479.77 μg·mL^{-1}；粗柠檬中诺米林为 54.23 μg·mL^{-1}，甜橙‘succari’中诺米林仅为 0.37 μg·mL^{-1}。孟鹏等（2012）采用 UPLC 法测得柠檬苦素含量由高到低依次为琯溪蜜柚>脐橙>尤溪金柑>柑橘，诺米林含量由高到低依次为脐橙>琯溪蜜柚>柑橘>尤溪金柑。彭腾等（2012）采用 RP-HPLC 法测得柠檬苦素含量由高到低依次为沙糖桔（金堂）>蜜橘（广元）>蜜橘（龙泉）>椪柑（新津）>椪柑（金堂）>广柑（青白江）>蜜橘（蒲江）。

为了提高柠檬副产物的高效利用率，促进柠檬产业蓬勃发展，本研究选取了 3 个不同产地和 5 个不同品种柠檬为供试材料，采用 HPLC 法对柠檬苦素和诺米林含量进行定性和定量分析，发现不同柠檬果品间的含量差异，为柠檬品种鉴定、资源开发利用提供理论依据，从而提高柠檬果品的综合利用价值。

1　材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

样品为相同成熟度的成熟柠檬果实，柠檬样品信息详见表 1。将果肉与果皮分离，果皮样品经冷冻干燥→粉碎后备用。

表 1 柠檬样品信息表

Table 1 Information of lemon samples

产地 Producing area	品种 Varieties	编码 Code	采收期 Harvest time
四川安岳 Anyue,Sichuan	尤力克 Eureka	EUR_C	2015-10-22
云南瑞丽 Ruili,Yunnan	尤力克 Eureka	EUR_D	2015-08-31
广东河源 Heyuan,Guangdong	尤力克 Eureka	EUR_Y	2015-09-18
广东连南 Liannan,Guangdong	无核柠檬 Seedless lemon	S_NM	2015-09-21
四川安岳 Anyue,Sichuan	热那亚 Genoa	RNY	2015-10-22
重庆北碚 Beibei,Chongqing	里斯本 Lisbon	LSB	2015-10-30
重庆北碚 Beibei,Chongqing	北京柠檬 Meyer lemon	M_NM	2015-10-30
重庆北碚 Beibei,Chongqing	粗柠檬 Rough lemon	R_NM	2015-10-30

BT124S 电子天平（北京赛多利斯仪器系统有限公司）；FW–80 高速万能粉碎机（天津泰斯特仪器有限公司）；LC–20AB 型高效液相色谱仪（日本 Shimadzu 公司）；LGJ–12 冷冻干燥机（北京松源华兴科技发展有限公司）；SB–600DTD 超声波清洗机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；UPH–II–20T 超纯水机（四川沃特尔水处理设备有限公司）；索氏提取器。

柠檬苦素（limomin）　　诺米林（nomilin）

图 1 柠檬苦素和诺米林的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of limonin and nomilin

对照品柠檬苦素（批号 MUST-13021606）、诺米林（批号 MUST-12072101）购自成都曼思特生物科技有限公司，化学结构式如图 1 所示，各标准品纯度均满足定量检测需求；乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司）；磷酸、丙酮和石油醚（60~90 ℃）（均为分析纯）购自成都科龙化工试剂厂；自制超纯水。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱：Agilent Eclipse XDB–C18（250 mm × 4.6 mm, 5 μm）；流动相：0.1%磷酸水溶液（A）–乙腈（B），梯度洗脱：10%~50% B（0~10 min），50%~60% B（10~20 min），60%~90% B（20~25 min），90%~10% B（25~35 min，10% B（35~40 min）；流速：1.0 mL min^{-1}；检测波长：210 nm；柱温：30 ℃；进样体积：10 μL。

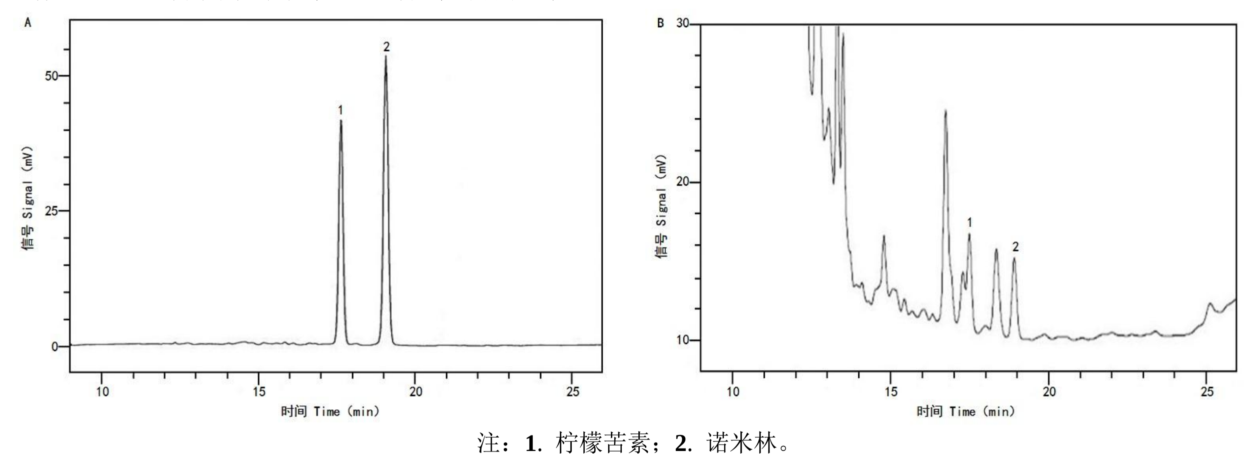
1.2.2 对照品溶液制备 精确称量对照品柠檬苦素 2.83 mg、诺米林 2.54 mg，分别用 80%丙酮溶解到 10 mL 容量瓶中，超声使其充分溶解，定容，配成 283 mg L^{-1} 柠檬苦素和 254 mg L^{-1} 对照品储备液。吸取适量对照品储备液采用梯度稀释法配制了系列质量浓度的混合标准溶液。

1.2.3 供试品溶液制备 用定量滤纸包好冷冻干燥后的果皮样品，用石油醚（60~90 ℃）在索氏提取器内彻底脱脂 24 h，将脱脂样品置于干燥器中，待石油醚（60~90 ℃）完全挥发，样品干燥后取出备用。称取 0.5 g 上述粉末，置具塞锥形瓶中，加入 80%丙酮溶液 10 mL，称重，超声（80 W，40kHz，50 ℃）1.5 h，放冷后用 80%丙酮补重。0.22 μm 微孔滤膜过滤，收集滤液备用。

2 结果与分析

2.1 HPLC 色谱结果

混合对照品与 EUR_C 供试品溶液的 HPLC 色谱图详见图 2。在 1.2.1 条件下，柠檬苦素和诺米林分离度均大于 1.8，分离效果极佳，目标峰对称性好。



注：**1**. 柠檬苦素；**2**. 诺米林。

Note：**1**. Limonin; **2**. Nomilin.

图 2 对照品混标（A）与 EUR_C（B）的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference substances (A) and limonoids extracted from EUR_C (B)

2.2 标准曲线的建立

在 1.2.1 条件下，平行测定各质量浓度按 1.2.2 制备的混合对照品溶液 3 次，取其峰面积平均值，以对照品质量浓度为 X 坐标，平均峰面积为 Y 坐标，绘制标准曲线。结果显示柠檬苦素和诺米林在一定质量浓度范围内与相应峰面积之间线性关系良好（表 2）。

表 2 柠檬苦素和诺米林的线性关系、检出限和定量限

Table 2 Linear regression data, LOD and LOQ of limonin and nomilin

柠檬苦素类似物 Limonoids	回归方程 Regression equations	相关系数 Correlation coefficient（R^2）	线性范围 Linear range (μg·mL^{-1})	检出限 LOD (μg·mL^{-1})	定量限 LOQ (μg·mL^{-1})
柠檬苦素 Limonin	Y = 42 630.98 X – 4 839.505	1.000 0	0.03~5.66	0.07	0.24
诺米林 Nomilin	Y = 57 153.92 X – 4 903.005	1.000 0	0.03~5.08	0.09	0.29

2.3 方法学考察

精密度试验 在 1.2.1 条件下，重复测定 6 次按 1.2.2 制备的混合对照品储备液，结果显示柠檬苦素和

诺米林平均峰面积的 *RSD* 分别为 0.88%、0.95%，说明仪器精密度良好。

稳定性试验　在 1.2.1 条件下，取按 1.2.2 制备的 EUR_C 供试溶液，分别于 0、2、4、6、8、12 和 24 h 后进行 HPLC 分析，结果显示柠檬苦素和诺米林的峰面积 *RSD* 分别为 0.76%、1.02%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重现性试验　在 1.2.1 条件下，重复测定 6 次按 1.2.2 制备的 EUR_C 供试溶液，结果显示柠檬苦素和诺米林的平均峰面积 *RSD* 分别为 0.63%、0.78%，说明该方法重现性较好。

加标回收率试验　在 1.2.1 条件下，在 EUR_C 供试溶液中加入定量的对照品储备液，重复测定 6 次，由表 3 可以看出，柠檬苦素和诺米林的加标回收率分别为 100.36%、99.79%；*RSD* 分别为 1.07%、1.12%，说明该方法准确度较高。

表 3　柠檬苦素和诺米林加标回收率试验结果

Table 3　Recoveries tests for limonin and nomilin

柠檬苦素类似物 Limonoids	样品含量 Content in sample (mg g^{-1})	添加量 Added (mg g^{-1})	测得量 Founded (mg g^{-1})	回收率 Recovery (%)	*RSD* (%)
柠檬苦素 Limonin	0.278	0.283	0.563	100.36	1.07
诺米林 Nomilin	0.219	0.254	0.472	99.79	1.12

2.4 不同产地柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量测定结果

在 1.2.1 条件下，参照 1.2.2 制备供试品溶液，对不同产地尤力克柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林进行定量和差异性分析，结果见表 4。

表 4　不同产地尤力克柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量

Table 4　Content of limonin and nomilin of lemon peel from different areas

产地 Area	编码 Code	含量 Content (mg g^{-1}) 柠檬苦素 Limonin	诺米林 Nomilin
四川安岳 Anyue,Sichuan	EUR_C	0.418 ±0.04 Aa	0.219 ±0.02 Ab
云南瑞丽 Ruili,Yunnan	EUR_D	0.421 ±0.04 Aa	0.269 ±0.03 Aa
广东河源 Heyuan,Guangdong	EUR_Y	0.337 ±0.03 Ab	0.070 ±0.01 Bc

注：同一列数值后大写字母表示差异极显著（P＜0.01），小写字母表示差异显著（P＜0.05）。下同。

Note: Capital letters mean extremely significant difference (P＜0.01) of the same column. Lowercase letters mean significant difference (P＜0.05) of the same column. The same below.

由表 4 可知，不同产地尤力克果皮中柠檬苦素和诺米林含量存在不同程度的差异。云南瑞丽和四川安岳两地的尤力克柠檬果皮中柠檬苦素的含量没有差异，含量分别为 0.421 mg g^{-1} 和 0.418 mg g^{-1}，广东河源的尤力克柠檬果皮中柠檬苦素的含量为 0.337 mg g^{-1}，与云南瑞丽和四川安岳两地的含量呈显著差异；不同产地对尤力克柠檬果皮中诺米林含量的影响较大，其中云南瑞丽的含量最高，达到 0.269 mg g^{-1}，其余两地依次是四川安岳（0.219 mg g^{-1}）和广东河源（0.070 mg g^{-1}），云南瑞丽与四川安岳两地的含量呈显著差异，且均与广东河源产地的含量呈极显著差异。

2.5 不同品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量测定结果

在 1.2.1 条件下，参照 1.2.2 制备样品溶液，对不同品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林进行定量和差异性分析，结果见表 5。

由表 5 可知，不同品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量差异显著。北京柠檬中柠檬苦素的含量与其他 4 个品种存在极显著差异，达到 0.589 mg g^{-1}，其余依次为粗柠檬（0.464 mg g^{-1}）、无核柠檬（0.393 mg g^{-1}）、热那亚（0.334 mg g^{-1}）、里斯本（0.326 mg g^{-1}），且粗柠檬与无核柠檬、热那亚、里斯本也存在极显著差异，而后三者之间差异不显著。里斯本、热那亚和北京柠檬的诺米林含量存在显著差异，含量分别为 0.203 mg g^{-1}、0.130 mg g^{-1} 和 0.050 mg g^{-1}，而无核柠檬和粗柠檬与前三者含量之间的差异极显著，而且两者之间诺米林含量差异极显著，含量分别为 0.688 mg g^{-1} 和 0.386 mg g^{-1}。

表 5　不同品种柠檬果皮中柠檬苦素和诺米林含量

Table 5　Content of limonin and nomilin of lemon peel in different varieties

品种 Varieties	编码 Code	含量 Content (mg g^{-1}) 柠檬苦素 Limonin	诺米林 Nomilin
里斯本 Lisbon	LSB	0.326 ±0.03 Cc	0.203 ±0.02 Cc
北京柠檬 Meyer lemon	M_NM	0.589 ±0.06 Aa	0.050 ±0.01 De
粗柠檬 Rough lemon	R_NM	0.464 ±0.04 Bb	0.386 ±0.04 Bb
无核柠檬 Seedless lemon	S_NM	0.393 ±0.04 BCbc	0.688 ±0.07 Aa

热那亚 Genoa	RNY	0.334 ±0.03 Cc	0.130 ±0.01 CDd

3 结论与讨论

高效液相色谱（HPLC）法是测定柠檬苦素类似物最常用的方法之一。Manners et al.（2015）建立了同时测定不同柑橘种子中 17 种柠檬苦素类似物含量的高效液相色谱法；刘亮等（2007）建立了同时测定柑橘中柠檬苦素和诺米林含量的高效液相色谱法。本研究建立了同时测定不同柠檬果品中柠檬苦素和诺米林含量的高效液相色谱法，采用常规的乙腈-磷酸缓冲体系可在 20 min 内完成柠檬苦素和诺米林的同时测定。该方法操作简单，具有较好的精密度、重现性、稳定性及高回收率等特点，可作为测定柠檬果品中柠檬苦素和诺米林的常规分析方法，可为柠檬果实质量评价提供理论依据和手段。

柠檬苦素类似物研究主要集中在不同类型柑橘比较，少有不同产地与不同品种间的比较。本研究对供试样品中柠檬苦素和诺米林的检测结果表明成熟柠檬果品中柠檬苦素含量明显高于诺米林含量，无核柠檬（柠檬苦素：0.393 mg g^{-1}，诺米林：0.688 mg g^{-1}）除外。这是因为诺米林是柠檬苦素类似物生物合成途径的原始前体，柠檬苦素生物合成途径是柑橘类水果中柠檬苦素类似物的主要代谢途径（蔡护华等，1996），诺米林含量的降低意味着柠檬苦素含量的升高，形成“此消彼长”的趋势，该文结果与此相同。

通过实验结果可看出 3 个产地的尤力克果品中柠檬苦素和诺米林含量存在显著差异，这与 3 个产地的气候条件、水分和土壤等条件息息相关。柠檬树体生长和果实发育的适宜年均气温为 17~19℃，四川安岳的年均气温为 18.5℃，年均降水量 924.9 mm，正是柠檬生长的最佳适宜条件，安岳年产柠檬鲜果 70 万 t，占全国总产量的 80%，排全世界第 8 位，综合上述因素，安岳被称为“中国柠檬之乡”。从 5 个不同品种柠檬的比较实验结果可得出柠檬苦素含量从高到低依次为北京柠檬>粗柠檬>无核柠檬>热那亚>里斯本，诺米林含量从高到低依次为无核柠檬>粗柠檬>里斯本>热那亚>北京柠檬。8 个柠檬果品中柠檬苦素和诺米林的含量差异显著，其累积规律与不同产地的生态气候条件、果实不同品种、组织、生长发育阶段、采收期及采后储运等诸多因素密不可分。随着柠檬多元化的功能性产品开发，有待进一步对柠檬种植资源进行综合的品质评价，建立完善的质量评价体系。依据不同品种活性成分含量的差异，培育并栽培推广专用型的柠檬品种，具有广泛的市场前景。

参考文献：

BATTINELLI L, MENGONI F, LICHTNER M, et al., 2003. Effect of limonin and nomilin on HIV-1 replication on infected human mononuclear cells [J]. Planta Med, 69(10):910-913.

BILAL H, AKRAM W, HASSAN SA, et al., 2013. Determination of limonin and nomilin contents in different *Citrus* cultivars using high performance liquid chromatography [J]. Pak J Sci Ind Res, 56(1):36-40.

BREKSA AP, KING DE, VILCHES AM, 2015. Determination of *Citrus* limonoid glucosides by high performance liquid chromatography coupled to post-column reaction with Ehrlich’s reagent [J]. Beverages, 1(2):70-81.

CAI HH, HASHINAGA F, 1996. The prosprect and current studies on the limonoids in *Citrus* [J]. Acta Bot Sin, 38(4):328-336. [蔡护华, 桥永文男, 1996. 柑桔果实中柠檬苦素类化合物的研究现状与展望 [J]. 植物学报（英文版）, 38(4):328-336.]

LI B, SHI R, XIONG Z, et al., 2012. Extraction and insecticidal activities of limonin in peel of *Citrus* maxima [J]. Chin Agric Sci Bull, 28(1):284-288. [李彪, 施蕊, 熊智, 等, 2012. 柚皮柠檬苦素的提取及其杀虫活性研究 [J]. 中国农学通报, 28(1):284-288.]

LI B, SHI R, XIONG Z, et al., 2012. Study on extraction and antibacterial activities of limonin in peel of *Citrus* maxima [J]. Sci Technol Food Indust, 33(5):198-200. [李彪, 施蕊, 熊智, 等, 2012. 柚子皮中柠檬苦素提取工艺及其抑菌活性研究 [J]. 食品工业科技, 33(5):198-200.]

LIU L, QI XY, DONG XY, et al., 2007. Determination of limonoids in *Citrus* by high performance liquid chromatography [J]. Food Ferment Indust, 33(4):130-133. [刘亮, 戚向阳, 董绪燕, 等, 2007. 高效液相色谱法测定柑橘中的柠檬苦素类似物 [J]. 食品与发酵工业, 33(4):130-133.]

LUO SZ, PAN LH, HE JJ, et al., 2006. Extraction and antibiotics of limonin in *Citrus* seeds [J]. Acad Period Farm Prod Process, (10):105-107. [罗水忠, 潘利华, 何建军, 等, 2006. 柑橘籽中柠檬苦素的提取与抑菌性研究 [J]. 农产品加工 学刊, (10):105-107.]

MAIER VP, BENNETT RD, HASEGAWA S, 1977. Limonin and other limonoids [J]. Citrus Sci Technol, 1:355-396.

MANNERS GD, 2007. *Citrus* limonoids: Analysis, bioactivity, and biomedical prospects [J]. J Agric Food Chem, 55 (21):8285-8294.

MANNERS GD, BREKSA API, 2004. Identifying *Citrus* limonoid aglycones by HPLC-EI/MS and HPLC-APCI/MS techniques [J]. Phytochem Anal, 15(6):372-381.

MANNERS GS, 2015. A new normal phase liquid chromatographic method for the analysis of limonoids in *Citrus* [J]. Phytochem Anal, 10(2):76-81.
MCINTOSH CA, 2000. Quantification of limonin and limonoate a-ring monolactone during growth and development of *Citrus* fruit and vegetative tissues by radioimmunoassay [J]. ACS Symp Ser, 758:73-95.
MENG P, ZHENG BD, 2013. Study on rapid simultaneous determination of limonin and nomilin in kumquat using ultra-performance liquid chromatography [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 13(2):177-181. [孟鹏，郑宝东, 2013. 超高效液相色谱法快速并同时检测金柑中柠檬苦素和诺米林 [J]. 中国食品学报, 13(2):177-181.]
MILLER EG, PORTER JL, BINNIE WH, et al., 2004. Further studies on the anticancer activity of *Citrus* limonoids [J]. J Agric Food Chem, 52(15):4908-4912.
MORIGUCHI T, KITA M, HASEGAWA S, et al., 2003. Molecular approach to *Citrus* flavonoid and limonoid biosynthesis [J]. J Food Agric Environ, 1(1):22-25.
OHTA H, CHI HF, BERHOW M, et al., 1993. Thin-layer and high-performance liquid chromatographic analyses of limonoids and limonoid glucosides in *Citrus* seeds [J]. J Chromatogr A, 639(2):295-302.
PAN LH, XU D, BU WJ, 2006. Advances in debittering technologies for *Citrus* juices [J]. Beverag Indust, 9(2):6-9. [潘利华，徐迪，布文婕, 2006. 柑橘类果汁脱苦的研究进展 [J]. 饮料工业, 9(2):6-9.]
PENG T, QIU JP, LI HX, et al., 2012. Determination of limonoids in varieties of mature *Citrus* peel in Sichuan by HPLC [J]. J Chengdu Univ Trad Chin Med, 33(4):69-71. [彭腾，邱建平，李鸿翔，等, 2012. 川产柑橘属不同品种成熟果皮中柠檬苦素的含量测定 [J]. 成都中医药大学学报, 33(4):69-71.]
RAMAN G, CHO M, BRODBELT JS, et al., 2005. Isolation and purification of closely related *Citrus* limonoid glucosides by flash chromatography [J]. Phytochem Anal, 16(3):155-160.
RAYNOR MW, ROBERTS SL, MULHOLLAND D A, 2015. Capillary supercritical fluid chromatography of limonoids [J]. J Sep Sci, 16(8):469-472.
SUN CD, CHEN KS, CHEN Y, et al., 2005. Contents and antioxidant capacity of limonin and nomilin in different tissues of *Citrus* fruit of four cultivars during fruit growth and maturation [J]. Food Chem, 93(4):599-605.
TANAKA T, KOHNO H, TSUKIO Y, et al., 2000. *Citrus* limonoids obacunone and limonin inhibit azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats [J]. Biofactors, 13(1-4):213-218.
TIAN QG, DING XL, 1999. Spectrophotometric determination of total limonoids in *Citrus* seeds [J]. J Instrume Anal, 18(5):45-47. [田庆国，丁霄霖, 1999. 测定橘核中柠檬苦素类似物的分光光度法 [J]. 分析测试学报, 18(5):45-47.]
WEN J, SHI Y, XU YJ, et al., 2007. Anti-inflammation and analgesic experimental study on *Citrus* fruits limonoids [J]. Food Sci, 28(11):515-518. [温靖，施英，徐玉娟，等. 柑桔果实中柠檬苦素抗炎镇痛作用的研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(11):515-518.]
WOO KL, KIM KMC, CHANG DK, 2006. Determination of flavonoid and limonoid compounds in citron (*Citrus junos* Sieb. et Tanaka) seeds by HPLC and HPLC/MS [J]. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35(3):353-358.
YU H, WANG C, DENG S, et al., 2017. Optimization of ultrasonic-assisted extraction and UPLC-TOF/MS analysis of limonoids from lemon seed [J]. LWT - Food Sci Technol, 84: 135-142.
YU JH, WANG GC, HAN YS, et al., 2015. Limonoids with anti-HIV activity from *Cipadessa cinerascens* [J]. J Nat Prod, 78(6):1243-1252.
ZOU Z, XI W, HU Y, et al., 2016. Antioxidant activity of *Citrus* fruits [J]. Food Chem, 196:885-896.